

UNIVERSITÉ DE LAUSANNE - FACULTÉ DE MÉDECINE

INSTITUT DE BACTÉRIOLOGIE

DIRECTEUR : PROFESSEUR P. HAUDUROY

ET

CLINIQUE DERMATOLOGIQUE UNIVERSITAIRE

DIRECTEUR : PROFESSEUR H. JÆGER

Contribution
à l'étude de l'agglutination des tréponèmes pâles
Comparaison avec le test d'immobilisation
de Nelson-Mayer et la sérologie classique

Analyse de 100 cas

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE LAUSANNE
POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

LÉONARD JULIUS THALHEIMER

DE NEW-JERSEY

Médecin diplômé de l'Université de Lausanne
Originaire des Etats-Unis

LANE MEDICAL LIBRARY
SAN FRANCISCO

LAUSANNE
IMPRIMERIE C. RISOLD ET FILS
1957

UNIVERSITÉ DE LAUSANNE - FACULTÉ DE MÉDECINE
INSTITUT DE BACTÉRIOLOGIE
DIRECTEUR : PROFESSEUR P. HAUDUROY
ET
CLINIQUE DERMATOLOGIQUE UNIVERSITAIRE
DIRECTEUR : PROFESSEUR H. JÉGER

Contribution
à l'étude de l'agglutination des tréponèmes pâles
Comparaison avec le test d'immobilisation
de Nelson-Mayer et la sérologie classique

Analyse de 100 cas

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE LAUSANNE
POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

LÉONARD JULIUS THALHEIMER

DE NEW-JERSEY

Médecin diplômé de l'Université de Lausanne
Originaire des Etats-Unis

LAUSANNE
IMPRIMERIE C. RISOLD ET FILS
1937

UNIVERSITÉ DE LAUSANNE

FACULTÉ DE MÉDECINE

Le Conseil de la faculté de médecine de l'Université de Lausanne, après avoir pris connaissance des rapports favorables de MM. les professeurs P. HAUDROY et H. JAEGER et sans se prononcer sur les opinions du candidat, autorise l'impression de la thèse intitulée :

**Contribution
à l'étude de l'agglutination des tréponèmes pâles**

**Comparaison avec le test d'immobilisation
de Nelson-Mayer et la sérologie classique**

Analyse de 100 cas

présentée par Monsieur LÉONARD JULIUS THALHEIMER pour
l'obtention du grade de Docteur en médecine.

Lausanne, le 15 juin 1957.

Le Doyen :
Prof. M. VUILLET

A mes chers parents

Que Monsieur le Professeur P. HAUDUROY

Monsieur le Professeur H. JÆGER

Monsieur le Docteur J. DELACRÉTAZ

trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu accorder à notre travail et la bienveillance avec laquelle ils en ont dirigé la préparation.

Que Monsieur le Docteur P. HARDY du Johns Hopkins University

trouve ici l'expression de nos remerciements pour le temps qu'il a consacré à nous expliquer la technique de son test.

Que le personnel des laboratoires de Bactériologie et de Dermatologie soient remerciés pour leur collaboration.

INTRODUCTION

Le développement du test d'immobilisation de Nelson-Mayer a fourni pour la première fois une méthode « in vitro » qui permette de déceler des anticorps tréponémiques spécifiques. Toutefois les difficultés de ce test ont limité son exécution à un petit nombre seulement de laboratoires spécialement équipés, six aux Etats-Unis et quelques-uns en Europe. Il reste toujours un besoin pratique d'un test spécifique et simple qui puisse être utilisé au laboratoire bactériologique général. A l'heure actuelle les résultats indiquent deux anticorps dans les infections syphilitiques : la « réagine » non spécifique et « l'immobilisine » ou agglutinine spécifique.

Plusieurs essais infructueux ont été faits pour développer un test de diagnostic utilisant les tréponèmes comme antigène dans une réaction d'agglutination. Hoffman, Zabolotny et Maslakowitz (7), Touraine (10) et d'autres ont démontré que les Tréponèmes pâles étaient agglutinés par les sérums d'individus syphilitiques. La plupart de ces recherches furent abandonnées à cause de la tendance à l'agglutination spontanée des tréponèmes pathogènes en suspension.

Récemment McLeod et Magnuson (9), Hardy et Nell (1) ont obtenu avec succès des suspensions stables de Tréponèmes pâles et ont trouvé que ces suspensions donnaient des réactions d'agglutination spécifiques avec des sérums syphilitiques.

Le but de cette étude est de faire connaître les résultats de nos travaux sur l'agglutination des Tréponèmes pâles, et de comparer ces résultats aux tests de Nelson-Mayer et à la sérologie classique pratiqués simultanément à la Clinique universitaire de Lausanne.

Comme le nombre de nos cas et de nos données expérimentales est forcément limité dans un travail tel que celui-ci, nous espérons néanmoins que cette analyse et d'autres travaux de laboratoire critiques et cliniques aboutiront à un test spécifique d'agglutination à la fois sûr et pratique.

La méthode de préparation de l'antigène et la technique des tests d'agglutination sont celles décrites par le Dr Paul Hardy (1).

TECHNIQUE

Préparation de l'Antigène tréponémique. — On a utilisé pour cette étude la souche de Tréponème pâle de Nichols, bien que des suspensions stables de Tréponèmes tels que le T. pertenue aient été préparées par d'autres auteurs. Les Tréponèmes ont été prélevés de syphilomes testiculaires de lapins, inoculés auparavant avec la souche Nichols.

Lapins. — On a choisi des lapins adultes mâles de 2,5 kg à 4,0 kg. On les a placés dans un local à air conditionné à une température de 20 degrés C au maximum. Le danger d'agglutination spontanée au cours de la préparation a été éliminé en choisissant uniquement des sujets dont les sérums de préinoculation étaient négatifs aux divers tests standards.

On a inoculé 0,5 cc. de sérum inactivé de lapin contenant des tréponèmes dans chaque testicule. Les tréponèmes n'ont pas été dénombrés. Le deuxième ou le troisième jour après l'inoculation, on commença des injections intramusculaires quotidiennes d'acétate de cortisone, 6,0 mg/kg de poids, jusqu'au sacrifice des animaux. Dans notre expérience, une forte orchite se développa d'une façon générale entre le 5^e et le 8^e jour et les animaux furent sacrifiés à ce moment. Pour quelques-uns cependant il fallut attendre jusqu'au 12^e ou au 14^e jour, comme le décrit Hardy (1). Nous avons pensé que chez les lapins qui n'ont pas été sacrifiés avant le 12^e jour des anticorps avaient pu se former, malgré les injections de cortisone. Pour tuer les animaux nous avons utilisé un appareil spécial qui sectionnait la moëlle. Les animaux ne furent pas saignés comme le décrivent d'autres auteurs. Naturellement il apparut un peu de sang dans le milieu d'extraction, mais pas assez cependant pour compromettre la préparation de l'antigène. Les testicules furent détachés et émincés avec des ciseaux, placés dans une solution de 50 cc. de 0,075 M de citrate de sodium et agités continuellement durant 3 heures à la température de la chambre (d'autres auteurs ont travaillé à 4 degrés). A la fin de ce temps, le liquide contenant un grand nombre de tréponèmes, fut séparé du tissu testiculaire ; on rajouta 50 cc. d'une nouvelle solution de citrate de sodium aux testicules et on exécuta une seconde extraction pendant 4 heures.

A la fin de l'extraction chaque suspension de tréponèmes fut centrifugée à 1000 t. p. m. durant 5 à 10 minutes pour faire sédimenter les particules trop grosses.

Les tréponèmes furent alors sédimentés par centrifugation à 6400 t. p. m. pendant une heure, à la température de la chambre. L'usage de la température ambiante ne semble pas affecter la préparation finale. En centrifugeant à 6400 t. p. m. on obtint une bonne quantité de tréponèmes qui formèrent un sédiment ferme mais facilement remis en suspension. (D'autres auteurs ont fait part de leur difficulté à remettre en suspension, après une centrifugation de 35'000 G.). Dans notre expérience le liquide résiduel contenait encore beaucoup de tréponèmes mais ceux-ci furent ensuite éliminés. Les tréponèmes centrifugés furent alors remis en suspension dans une solution saline, à une densité d'environ 60 tréponèmes par champ microscopique à l'objectif 40. On ajouta du merthiolate à une concentration finale de 0,01 %, comme préservatif. Finalement toutes nos préparations d'antigène furent mélangées avec le 1/20 du volume d'un tampon de phosphate 0,1 M, ph 7,6. Nos préparations ne furent pas chauffées après avoir été remises en suspension, et quelques préparations furent gardées à la température ambiante, d'autres à 4 degrés.

La cortisone accrut certainement le nombre des tréponèmes. L'utilisation de la solution de citrate de sodium comme milieu d'extraction élimina la formation de caillots de fibrine, comme l'avait déjà constaté Hardy (1).

Tous les animaux employés dans nos séries étaient négatifs aux tests de Kolmer, Meinicke, VDRL et Rein-Bossack, avant leur inoculation avec des tréponèmes. Deux des animaux d'une autre série eurent un test de Meinicke surpect.

Absorption de l'anticorps de Wasserman du Sérum. — Dans ces expériences, on utilise des sérums dont l'anticorps de Wasserman fut éliminé par l'antigène VDRL.

a) **Pour les échantillons de sérum de plus de 1 cc.** — On fit précipiter un volume de solution alcoolique de l'antigène de flocculation VDRL dans 5 volumes de solution saline (0,85 % NaCl) et sédimenter par centrifugation à 2500 t. p. m. pendant 30 minutes. Le liquide résiduel fut rejeté et le sérum à absorber ajouté au précipité en volume égal à la solution antigénique alcoolique originale.

b) **Pour les échantillons de sérum de moins de 1 cc.** — L'antigène précipité fut ramené à son volume original par l'addition d'une solution saline, et une partie de cet antigène fut mélangée avec un volume égal de sérum ; en procédant ainsi le sérum absorbé fut considéré comme étant dilué de moitié.

On chauffa le mélange antigène-sérum pendant une heure au bain-marie à 37° C., puis à 4° C. toute la nuit. Le jour suivant on sépara par centrifugation le sérum absorbé du complexe antigène-anticorps.

Technique des tests d'agglutination. — Les tests d'agglutination furent exécutés au moyen de tubes de 10 sur 75 mm., d'un volume total de 0,2 cc. soit : 0,1 d'antigène et 0,1 de sérum dilué. Tous les sérums furent dilués dans une solution saline contenant 0,005 M de tetracetate d'éthylènediaminine (sel disodique) ajusté à un pH de 7,6.

Pour éviter un léger phénomène de zone observé à des dilutions plus basses, on part d'une dilution du sérum à 1/10. On fit des dilutions croissantes et la dilution la plus haute qui donna une agglutination déterminée fut prise comme titre.

Les mélanges furent chauffés pendant 18 heures au bain-marie à 37° C. La présence ou l'absence d'agglutination fut déterminée par un examen au microscope à fond noir. Seuls les tréponèmes nageant librement entre la lame et la lamelle furent examinés, car les autres donnaient de fausses impressions d'agglutination. Le degré d'agglutination fut indiqué par des chiffres allant de 0 à 4.

Température, Concentration de NaCl et EDTA*. — Les suspensions de tréponèmes ne furent chauffées ni pendant la préparation finale de l'antigène, ni avant l'exécution de la réaction. On utilisa seulement une incubation à 37° C. pendant 18 heures. Jusqu'à présent les recherches ne donnent aucune indication quant à la nature des changements qui s'opèrent dans le tréponème par la conservation ou le chauffage.

Le tetracetate d'éthylènediamine a une grande affinité pour le ion calcium, ce qui est probablement la cause d'interférence avec agglutination (méthode décrite par Hardy).

Le pH de toutes les solutions a été approximativement de 7,6. On suppose que le pouvoir d'agglutination diminue en dehors des valeurs de pH 5-8 et que la faculté de l'EDTA de lier l'ion de calcium diminue au-dessous d'un pH de 7. Nous n'avons fait aucun travail expérimental sur ce point.

La concentration de NaCl utilisée était de 0,85 %, en effet on a trouvé que l'agglutination était optima à cette concentration.

Agglutination des tréponèmes avec des sérums humains. —

Au tableau I se trouvent les premiers résultats d'agglutination de tréponèmes, utilisant un antigène d'une semaine qu'on n'a pas chauffé pendant sa préparation ou avant son usage. On peut comparer facilement sur le tableau I les résultats du test d'agglutination après l'absorption avec l'antigène VDRL aux résultats de la sérologie classique pratiquée avant et après l'absorption et aux résultats du test de Nelson-Mayer.

* EDTA = ethylènediamine tetracetate.

L'agglutination fut faible dans les quelques premiers tests, même avec des sérums dilués à 1/10. Les tubes de contrôle furent négatifs : on n'y trouve pas d'agglutination, les tréponèmes étant bien séparés et bien formés. Les trois premiers sérums, pendant que l'agglutination était faible, se comparaient favorablement au test de Nelson-Mayer. Les 4^e et 5^e sérums furent négatifs comme le fut le test de Nelson-Mayer et le 6^e serum fut négatif avec le test de Nelson-Mayer correspondant positif et les réactions classiques négatives.

Le tableau II montre ces mêmes six sérums à des dilutions progressives. Avec les 100 tests d'agglutination qui suivent, on trouva rarement une agglutination à de très hautes dilutions, sauf dans les sérums d'un titre très élevé. Nous n'avons pas préparés des sérums à titre élevé, comme le firent d'autres auteurs.

Dans le tableau III, on voit les résultats des mêmes six sérums à une dilution de 1/10 ; mais l'antigène employé, vieux d'une semaine avait été chauffé à 83° C pendant deux heures avant l'usage. Toutes les réactions se trouvèrent négatives, on ne trouva pas d'agglutination. Dans plusieurs cas on observa une disparition d'un certain nombre de tréponèmes ou du moins une nette diminution de leur colorabilité.

Il est difficile d'expliquer ces faibles réactions, mais il est possible que l'antigène fut trop jeune et non agglutinable (1)

Tableau I.

Résumé des résultats des tests d'agglutination des Tréponèmes par le sérum humain après absorption par l'antigène VDRL (antigène gardé à la température de la chambre, datant d'une semaine).

Sera	Avant l'Absorption				Après l'Absorption			
	Kolmer	Meinicke	VDRL	Nelson	Kolmer	Meinicke	VDRL	T.A.T.
3172	++	++	++	100 %	—	—	—	3
3171	++	++	++	100 %	nul*	—	—	2
3160	++	++	++	100 %	—	—	—	2
3151	++	++	++	8 %	—	—	—	0
3087	++	+	++	0 %	—	—	—	0
3081	—	+	+	100 %	nul	—	—	0

* Nul = pas d'hémolyse dans le tube témoin.

Tableau II.

Sera	Dilution de Séra *										contr.
	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	
3172	3	3	3	2	1	0	0	0	0	0	0
3171	2	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0
3160	4	4	3	2	0	0	0	0	0	0	0
3151	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3087	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3081	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* exprimé comme la réciproque.

Tableau III.

Résumé des résultats des tests d'agglutination des tréponèmes par le sérum humain après absorption par l'antigène VDRL (antigène chauffé à 83° C pendant 2 heures)

Sera	Dilution de Séra *		Contrôle
	10	0	
3172	0	0	
3171	0	0	
3160	0	0	
3151	0	0	
3087	0	0	
3081	0	0	

* exprimé comme la réciproque.

ou que le chauffage, pendant deux heures à 83° C ait détruit ou diminué ses propriétés. Comme pour le sérum 6 (dans ce premier petit groupe) on eut un test d'agglutination négatif avec les tests de Nelson positifs; nous ne pouvons pas offrir d'explication concrète de ce phénomène.

Dans ce travail, nous avons seulement entrepris une comparaison avec les tests sérologiques connus, mais sans aucun contrôle clinique.

Il est certain que pour mieux comprendre ces résultats, il faudrait les accompagner de contrôles et de recherches cliniques.

Dans les 100 tests exécutés, les résultats des tests d'immobilisation et de la sérologie classique ne furent pas communiqués à la personne lisant les tests, qui n'a donc pas été influencée dans l'interprétation du test d'agglutination.

A différentes reprises au cours de ces travaux, plusieurs réactions de Kolmer ou de VDRL furent soit suspectes soit nulles, même après absorption répétée avec l'antigène VDRL. On pense que la présence d'un peu de précipité composé d'antigène VDRL et d'anticorps de Wasserman dans le sérum final, ou provoqua une lecture faussée dans le test de VDRL ou faussa le résultat dans le tube de contrôle du test de Kolmer, par l'absorption du complément. A la lumière de cette explication du phénomène, on récolta des précipités contenant de l'antigène VDRL et de l'anticorps de Wasserman de sérums syphilitiques positifs après absorption. On pratiqua des tests de Kolmer sur une partie des précipités récoltés. Les résultats furent négatifs. Dans le test de VDRL, les résultats furent très difficiles à interpréter à cause de la présence du précipité granuleux. L'on conclut qu'il fallait employer une technique très minutieuse, surtout en prélevant avec la pipette les parties claires du liquide résiduel surnageant au précipité centrifugé après l'absorption. Seule l'utilisation de ces sérums clairs élimina ces résultats faussement positifs.

Dans les tableaux I, IV, V et VI, se trouvent les résultats du test d'agglutination (TAT) après absorption, du test d'immobilisation avant absorption et de la sérologie classique avant et après absorption. On exécuta avec plusieurs sérums le test d'agglutination avant et après l'absorption de l'anticorps de Wasserman. On trouva que l'agglutination résultante était bien plus élevée avant l'absorption, ce phénomène étant probablement causé par la présence de l'anticorps de Wasserman qui lui seul est éliminé par l'absorption.

En prenant le test d'immobilisation comme base pour évaluer la réaction d'agglutination, on eut des résultats comparables dans plus de 92,8 %, et des résultats contradictoires dans seulement 7,2 % des cas. Il fut aussi intéressant d'examiner les tests d'agglutination par rapport aux réactions de Kolmer et du VDRL. Les résultats de la réaction d'agglutination furent comparables aux tests du VDRL pour plus de 80 % des tests, et

contradictaires pour 19 %. Pour le test de Kolmer, on eut des résultats comparables dans le 70 % des cas seulement et des résultats contradictoires dans les autres 25 %.

Il ne serait pas sage de tenter d'interpréter ces résultats sans avoir fait une étude clinique approfondie.

Tableau IV.

+ = positif, — = négatif, ± = suspect

Sera	Avant l'Absorption				Après l'Absorption			
	Holmer	Meinieke	VDRL	Nelson	Holmer	Meinieke	VDRL	T.A.T.
Contrôle	Antigène	+	sérum	physiologique				0
3066	++	+	++	100 %	sans absorption			4
3066	++	+	++	100 %	—	—	—	2
3067	++	++	++	100 %	—	—	—	3
3073	++	++	++	100 %	—	—	—	4
3079	—	P. L. Or. 12.0		100 %	—	—	—	2
3080	—	—		95 %	—	—	—	3
3091	++	+	±	100 %	—	—	—	3
3092	+	+	±	100 %	—	—	—	2
3095	++	—	++	100 %	—	—	—	2
3100	++	++	++	100 %	nul	—	—	2
3102	++	±	++	100 %	±	—	—	3
3103	++	++	++	100 %	—	—	—	4
3106	++	++	++	100 %	nul	—	—	4
3108	++	++	++	100 %	nul	—	—	4
3134	++	++	++	100 %	—	—	—	3
3155	++	++	++	100 %	—	—	—	2
3158	++	+	+	100 %	—	—	—	1
3186	++	++	++	100 %	nul	—	—	1
3195	++	++	++	100 %	—	—	—	2
3197	++	—	+	100 %	—	—	—	2
3199	++	±	+	100 %	—	—	—	3
3220	++	++	++	100 %	nul	—	—	3
3258	++	++	++	100 %	—	—	—	4
3259	++	—	++	100 %	—	—	—	1
3275	+	+		86 %	—	—	—	1
3283	++	++		100 %	nul	—	—	3
3290	++	++	++	100 %	—	—	—	3
3293	—	++	++	0 %	—	++	—	0
3303	+	±	±	17 %	—	—	—	0
3305	+	+	+	14 %	sans absorption			0
3305	+	+	+	14 %	—	—	—	0
3310	++	—	+	100 %	—	—	—	2

Tableau V.

Avant l'Absorption					Après l'Absorption				
Sera	Holmer	Meinicke	VDRL	Nelson	Holmer	Meinicke	VDRL	T.A.T.	
Contrôle	antigène + sérum physiologique							0	
Joe	—	—	+	0 %	—	—	—	2	
3165	—	+	+	100 %	—	—	—	2	
3166	++	—	+	100 %	—	—	—	2	
3176	—	—	+	17 %	—	—	—	0	
3179	—	—	+	0 %	—	—	—	0	
3181	—	++	—	90 %	—	—	—	2	
3187	—	+	—	5 %	—	—	—	1	
3189	—	—	+	4 %	—	—	—	0	
3196	+	+	+	41 %	—	—	—	0	
3205	—	—	—	5 %	—	—	—	0	
3214	—	+	—	100 %	nul	—	—	4	
3226	++	+	—	100 %	—	—	—	3	
3218	—	—	—	51 %	—	—	—	2	
3227	—	—	—	100 %	—	—	—	2	
3229	—	—	—	5 %	—	—	—	2	
3230	—	+	+	30 %	—	—	—	2	
3231	++	++	++	100 %	nul	—	—	2	
3232	++	+	++	100 %	—	—	—	3	
3234	++	++	++	100 %	—	—	—	3	
3241	++	++	++	100 %	—	—	—	4	
3246	—	—	—	46 %	—	—	—	0	
3249	—	+	+	0 %	—	—	—	0	
3257	—	—	—	100 %	—	—	—	0	
3269	++	++	++	100 %	nul	—	—	2	
3285	—	+	—	100 %	—	—	—	2	
3296	—	++	++	100 %	—	—	—	3	
3304	++	++	++	100 %	—	—	—	4	
3313	++	+	+	100 %	—	—	—	4	
3314	—	++	++	100 %	nul	—	—	3	
3316	—	—	—	33 %	—	—	—	0	
3317	—	—	—	100 %	—	—	—	2	
3319	—	—	++	17 %	—	—	—	2	

Tableau VI.

Sera	Avant l'Absorbtion				Après l'Absorption			
	Holmer	Meinicke	VDRL	Nelson	Holmer	Meinicke	VDRL	T.A.T.
Contrôle	antigène	+	sérum	physiologique				0
3054	++	—	+	100 %	—	—	—	4
3055	—	—	+	0 %	—	—	—	0
3059	—	++	—	0 %	—	—	—	0
3060	—	—	—	0 %	—	—	—	0
3062	—	+	—	100 %	—	—	++ ?	4
3064	—	—	—	0 %	—	—	—	0
3068	++	+	+	100 %	—	—	+++ ?	3
3070	—	—	+	17 %	—	—	—	0
3071	—	—	—	9 %	—	—	—	0
3094	++	+	+	0 %	—	—	—	0
3104	—	—	+	0 %	—	—	—	0
3105	++	+	+	100 %	—	—	—	2
3107	—	—	+	100 %	—	—	—	2
3109	—	+	+	96 %	—	—	—	3
3110	—	+	++	91 %	—	—	—	4
3118	—	—	—	0 %	—	—	—	0
3119	—	—	—	15 %	—	—	—	0
3128	—	—	—	0 %	—	—	—	0
3132	—	+	—	35 %	—	—	—	0
3138	++	—	+	100 %	—	—	—	2
3143	—	+	++	0 %	—	—	—	2
3150	+	—	++	100 %	—	—	—	3
3154	—	—	—	8 %	—	—	—	0
3159	—	—	+	0 %	—	—	—	0
3169	—	L.C.R. or.	—	0 %	—	—	—	0
3188	—	—	—	13 %	—	—	+	0
3192	—	—	—	0 %	—	—	—	0
3194	—	—	—	13 %	—	—	—	0
3203	—	—	—	12 %	—	—	—	0
3211	++	—	+	100 %	—	—	—	2

DISCUSSION

Le test d'immobilisation de Nelson-Mayer et le récent test d'agglutination des tréponèmes exécuté par divers auteurs (1, 9) n'excluent pas, dans les infections syphilitiques, l'existence d'un anticorps « spécifique » en opposition à l'anticorps « non-spécifique » de Wasserman. Toutefois, les difficultés techniques et les dépenses exigées pour maintenir un laboratoire affecté au test de Nelson, limitent son emploi. L'avantage de ce nouveau test d'agglutination serait la préparation d'un antigène stabilisé, obtenu à un prix bas et distribué par un laboratoire central. Ces raisons nous ont poussé à entreprendre la présente étude.

Les critères d'un antigène tréponémique valable ont été exposés, à savoir une densité d'au moins 60 tréponèmes par champ microscopique ou même davantage.

La cortisone en supprimant la réponse inflammatoire, le citrate de sodium en prévenant la formation de caillots fibreux, l'EDTA en liant l'ion de calcium, et l'utilisation d'animaux dont les sérums de préinoculation furent négatifs, facilitèrent la préparation de l'antigène tréponémique. La chaleur ne fut utilisée ni dans la préparation de l'antigène, ni avant son usage pour le rendre plus agglutinable. En composant cette étude, nous avons trouvé une agglutination satisfaisante avec les préparations d'antigène vieilles de 1 à 5 mois. Pour obtenir une meilleure agglutination, quelques-uns des tests furent exécutés avec des sérums à une dilution de 1/5 et les résultats furent considérablement améliorés. On n'a pas noté de réaction de prozone. Sans doute, dans ces quelques tests les sérums furent d'un titre bas. Les résultats des tests d'agglutination se compareraient favorablement aux résultats des tests de Nelson, et un peu moins favorablement à la sérologie classique.

Comme nous l'avons dit plus haut, nous n'avons tenté aucun contrôle clinique dans cette étude. Il y eut parfois quelque difficulté dans l'interprétation des tests, mais chaque test d'agglutination se comparait favorablement au résultat du test de Nelson. On doit également considérer que la réaction d'agglutination est une réaction bien plus sensible que le test de Nelson. La disparition des tréponèmes observée dans quelques tubes pourrait s'expliquer soit par une lyse des organismes, soit par une transformation granuleuse. Le phénomène a été noté pour les sérums d'un titre élevé par le nombre 4 dans le test d'agglutination, bien que ceci ne se produisit pas chaque fois (7, 9).

Les résultats de ces travaux montrent pratiquement un parallélisme complet entre les résultats du test de Nelson et du test d'agglutination. Mais notre étude s'est limitée uniquement à 100 cas, et on n'y a introduit aucun contrôle clinique ; seules des recherches futures et des études cliniques pourront résoudre ce problème. Nous ne pouvons conclure par nos travaux à l'existence réelle de deux anticorps dans les infections syphilitiques, car nous n'avons pas testé les sérums avant l'absorption par l'antigène de VDRL. Néanmoins de cette modeste étude de l'agglutination des tréponèmes dans laquelle 100 tests ont été pratiqués, dont les résultats coïncident dans la plupart des cas avec les résultats du test d'immobilisation, nous concluons avec d'autres auteurs (1, 7), que la réaction d'agglutination est un test très sensible et se compare favorablement au test de Nelson-Mayer. Il y a toujours quelque difficulté dans la préparation de l'antigène, le temps pendant lequel les tréponèmes restent agglutinables étant limité et leur stabilité dépendant des changements de température.

SOMMAIRE

Ce travail a essentiellement été fait comme étude de contrôle des recherches récentes de Hardy et Nell (1).

La méthode de la préparation de l'antigène tréponémique et la technique du test sont décrites. L'antigène peut être conservé à la température ambiante aussi bien qu'à 4° C pendant des mois sans perte appréciable de l'agglutinabilité. L'inhibition de l'agglutination par un cation, probablement le calcium, a été supprimée par l'usage d'un agent spécial, le tétracétate d'éthylenediamine (1). Aucune étude expérimentale n'a été faite sur ce point au cours de nos travaux.

Nous avons pratiqué le test sur 100 sérums humains en faisant une comparaison entre les résultats des tests d'agglutination, d'immobilisation de Nelson-Mayer et des réactions sérologiques standard, telles que la réaction de Kolmer, de Meinicke et du VDRL. En conclusion nous nous rangeons à l'opinion de Hardy et nous estimons avec lui que le test d'agglutination semble avoir une spécificité comparable à celle des tests d'immobilisation de Nelson-Mayer et bien supérieure à celle des réactions sérologiques classiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Hardy P. and Nell E.E. — J. Exp. Méd. 1955, vol. 101, n° 4.
2. Nelson R.A. and Mayer M.M. — J. Exp. Med. 1949, 89, 369.
3. Moore J.E. and Mohr C.F. — J. Amer. Med. Ass. — 1952, 150, 467.
4. Blum K. — Z. Immunitätsforsch., 1944, 40, 491.
5. Caldwell W.A. — Brit. J. Exp. Path., 1930, II, 1.
6. Tani T. — Japon J. Exp. Med., 1940, 18, 11.
7. Zabolotny D. and Maslakowitz. — Centr. Bakt.: O. abt. Orig. 1907, 44, 532.
8. Comandon J. — Thèse, Paris, 1909, n° 419.
9. McLeod C. and Magnuson H.J. — Public Health Rep. U.S.P.H.S.; 1953, 68, 747.
10. Touraine A. — Thèse: Les anticorps syphilitiques, essais de séro-agglutination de la syphilis, Paris. Faculté de Médecine, 1912.
11. Chapuis H. — Le test de Nelson-Mayer aux différents stades de la syphilis. Thèse. Université de Lausanne, 1954.
12. Delacrétaz J. et Jaeger H. — Nos premiers résultats avec le T.P.I. (analyse de 500 tests). Troisième coll. de la filiale marseillaise de la Soc. française de derm. et de syph., oct. 1952.

